



Araştırma Makalesi/Reserach Article

## BAP ve IBA'nın Boysenberry'nin In Vitro Sürgün Çoğalması ve Köklenmesi Üzerine Etkileri

Sevinç Şener<sup>1\*</sup>  Zehra Kurt<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü,

<sup>2</sup>Akdeniz üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

\*Sorumlu yazar: ssener@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi: 05.07.2021

Kabul Tarihi: 07.02.2022

### Öz

Boysenberry dünyadaki yetiştiriciliği hızla artan, taze tüketime ve işlenmeye olan uygun yüksek kaliteli meyvelere sahip olan önemli bir üzümü meyvedir. Boysenberrinin çoğaltılmasında kısa sürede çok sayıda ve hastalıktan arı bitki elde edilmesi açısından mikro çoğaltım yöntemleri önem arz etmektedir. Bu çalışmada, IBA ve BAP'nın Boysenberry çeşidinin sürgün ucunun in vitro kültür yoluyla mikro çoğaltımı üzerine etkisi araştırılmıştır. Denemede BAP (0, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>) ve IBA (0, 0.5, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>)'nin farklı konsantrasyon ve kombinasyonları kullanılmıştır. Çalışmada boysenberry fidanlarından alınan sürgün uçlarının MS ortamında 2 hafta gelişmesi sağlanmış ve alt kültüre alınan örneklerle başlangıç (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + %0.44 Gelrite), sürgün (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) ve köklendirme (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) aşamalarında IBA ve BAP'ın farklı konsantrasyonları ve kombinasyonları uygulanmıştır. Çalışmada uygulamaların bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla bitkilerde sürgün uzunluğu, gövde çapı, yaprak sayısı, yaprak eni ve boyu, yaş ve kuru sürgün ağırlığı, klorofil indeksi ölçümleri yapılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda BAP 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında, en yüksek ortama sürgün yaş (1.59 g) ve kuru ağırlığı (0.455 g) ve çoğalma katsayısı (10.40) belirlenmiştir. Köklendirme aşamasında ise en yüksek ortalama kök yaş ağırlığı (0.279 g) ve kuru ağırlığı (0.0368 g) IBA 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında belirlenirken en yüksek ortalama kök sayısına (14.04) IBA 0.5 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında ulaşılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, boysenberrinin mikroçoğaltımında sürgün aşaması için BAP 2 mg l<sup>-1</sup> dozlarının ve köklenme aşamasına uygun IBA 0.5, 1 mg l<sup>-1</sup> dozlarının kullanılması önerilebilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Boysenberry, in vitro, IBA, BAP, doku kültürü

### The effects of Benzyl Amino Purine (BAP) and Indole Butyric Acid (IBA) on in vitro shoot proliferation and rooting of Boysenberry

#### Abstract

Boysenberry is an important berry fruit that is growing rapidly in the world and has high quality fruits suitable for fresh consumption and processing. Micro propagation methods are important in the reproduction of boysenberry in order to obtain a large number of disease-free plants in a short time. In this study, the effect of IBA and BAP applications on the shoot tip of the Boysenberry variety by in vitro culture was investigated. Different combinations of plant growth regulators BAP (0, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>) and IBA (0, 0.5, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>) were used in the experiment. In the study, shoot tips of boysenberry were cultured in MS medium for 2 weeks. At the end of this period plant materials were subcultured in the initial stage by planting on MS nutrient medium containing MS + 3% sucrose + 0.7% agar + 0.44% Gelrite. While the effect of different BAP and IBA doses (MS + %3 sucrose + %0.7 agar + 1, 2 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) were determined in the shoot propagation stage, different doses of IBA (MS + 3% sucrose + 0.7% Agar + 0.5, 1 and 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) was determined in rooting stage. In the study, in order to determine the effect of plant growth regulators on the growth and development of plants, fresh and dry shoot weight, shoot length, stem diameter, multiplication rates, leaf number, leaf width and length, chlorophyll index, fresh and dry root weight, root length, rooting ratio were measured. As a result of the evaluation, the highest average shoot weight (2.05 g) and dry weight (0.455 g) and multiplication rates (10.40) were determined in BAP 2 mg l<sup>-1</sup> application. In the rooting phase, the highest average root fresh weight (0.279 g) and dry weight (0.0368 g) were determined in IBA 2 mg l<sup>-1</sup> application, while the highest average root number (14.04) was reached in IBA 0.5 mg l<sup>-1</sup> application. When the data obtained from the study are evaluated, it is thought that BAP 2 mg l<sup>-1</sup> doses can be used for the shoot stage and IBA 0.5, 1 mg l<sup>-1</sup> doses appropriate for the rooting stage in micro-propagation of the shoot tip of boysenberry by in vitro culture.

**Keywords:** Boysenberry, in vitro, IBA, BAP, tissue culture



## Giriş

Üzümü meyveler, insan sağlığına olan faydasından dolayı tüketimi tavsiye edilen ve tüm dünyada sevilerek tüketilen, ekonomik değeri yüksek meyvelerdir. Bu meyveler kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığı önleyici etkisi bulunan polifenollerden dolayı önem taşımaktadırlar (Furuuchi, 2018). Üzümü meyveler grubunda yer alan boysenberry ise 1921-23 yılları arasında ABD’de *Rubus baileyanus* ve *Rubus loganobaccus*’un melezlenmesi ile elde edilen bir hibrittir. Kırmızı-mor skalasında renklere sahip olan boysenberry meyveleri, organoleptik özelliklerine katkıda bulunan ve insan sağlığı üzerinde çok çeşitli faydaları bulunan biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Furuuchi ve ark., 2018; Cooney ve ark., 2004). Boysenberry’nin tüm dünyadaki yetiştiriciliği, taze tüketime ve işlenmeye olan uygunluğundan, diğer böğürtlen çeşitlerine kıyasla daha yüksek meyve kalitesine sahip olmasından dolayı hızla artmaktadır (Hall ve Langford, 2005; Wood ve ark., 1999). Yüksek aroma ve albeniye sahip olan boysenberry meyveleri gıda endüstrisi tarafından tercih edilmektedir. Son 25 yılda dikensiz, iri meyveli, birçok hastalık ve zararlıya karşı dirençli çeşitleri geliştirilen, pazar avantajı olan ‘Boysenberry’nin ticari üretimi ne yazık ki henüz istenilen seviyeye ulaşamamıştır (Hall ve Langford, 2005). Boysenberry’nin üretim miktarı ve yetiştiricilik alanlarının istenilen seviyeye ulaşmasının nedenleri arasında, tarım alanlarının giderek azalması, iş gücü eksikliği, hastalık ve zararlılardan kaynaklı üretim kaybı, üretim materyallerine olan ulaşım zorlukları gibi sorunlar yer almaktadır (Wood ve ark., 1999). Tohumla veya vejetatif olarak çoğaltılabilen boysenberrynin vejetatif çoğaltma yöntemleri arasında kök sürgünleri ile, uç daldırması ile, yaprak-göz çelikleri ile, kök çelikleri ile çoğaltma gibi yöntemler kullanılmaktadır (Şener ve Duran, 2020). Ancak bu yöntemlerle bitkilerin hızlı ve çok sayıda üretilebilmesi, hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyalinin elde edilmesi, kitlesel üretimde fenotipik ve genotipik açıdan benzer bitkilerin elde edilmesi mümkün olamamaktadır (Gray ve Benton, 1991). Ayrıca vejetatif çoğaltmada geniş alan gereksinimleri, çoğaltma yataklarında ortaya çıkan yabancı ot problemleri, masraflı ve zaman alan bakım işlemleri gibi sorunlar yöntemin başarısını sınırlamaktadır (Al-Amin ve ark., 2009).

İklim ve toprak koşullarının olumsuz etkilerine maruz kalmadan, dört mevsim yetiştiriciliğe olanak tanıyan mikro çoğaltım tekniği, bitkisel üretimde pek çok bitki türünün başarılı bir şekilde yetiştirilmesine katkı sunabilmektedir (Badjakov ve ark., 2021; Debnath ve Goyalı, 2020; Debnath, 2009). Bitkilerin *in vitro* yöntemde sürgün uçlarının kullanılarak çoğaltılması mevsimsel sınırlamaları ortadan kaldırmakta, az miktarda üretim materyali gerektirmekte ve en önemlisi bu yöntemle kısa zamanda, fazla sayıda, sağlıklı ve tipe uygun üretim yapılabilir (Najaf-Abadi ve Hamidoghli, 2009; Molkanova ve ark., 2018). Biyoteknolojik yöntemler aracılığı ile üretim materyali ihtiyacının karşılanması biyoteknolojik yöntemleri kullanarak klon anacı üretiminin ülke ihtiyaçları ölçüsünde arttırılması ve yaygınlaştırılması çoğaltma materyalinin yurtdışından ithalini önleyecek ve üretimdeki girdi maliyetlerini azaltacaktır (Raeva-Bogoslovskaya ve ark., 2021). Tüm bu olumlu özelliklerinin dışında mikro çoğaltma tekniği henüz yeni sayılan bir tekniktir ve bu yöntemle ilgili daha farklı türlerde fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Böğürtlen ve ahududu bitkisinin *in vitro* üretim çalışmaları için farklı eksplantlar test edilmiştir ve genelde petiol, yaprak, yaprakçık, meristem, kallus, sürgün ucu eksplantları denemelerde kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Zimmerman 1991; Bobrowski ve ark. 1996; Mezzetti ve ark., 1997; Meng ve ark., 2004) Böğürtlen ve ahududunda yapılan *in vitro* çoğaltma çalışmalarında genelde sitokinin olarak BAP, BA; oksin olarak IBA, NAA ve IAA kullanılmıştır (Çetiner ve ark., 1993; Bobrowski ve ark. 1996; Mezzetti ve ark., 1997; Kefayeti ve ark., 2019; Umarusman ve ark., 2020). Birçok çalışmada BAP-IBA kombinasyonlarından hazırlanan ortamlarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Mezzetti ve ark., 1997; Kefayeti ve ark., 2019; Umarusman ve ark., 2020). Böğürtlen ve ahududu dahil olmak üzere birçok üzümü meyve türünde BBD’lerin *in vitro* koşullarda kullanımı ve protokol oluşturulmasına yönelik çok sayıda çalışmaya rastlanırken, boysenberry ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bu çalışmada boysenberrynin sürgün ucunun *in vitro* kültür yoluyla mikro çoğaltılmasında bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) olan IBA (indol-3-butirik asit) ve BAP (benzilaminopurin)’nin farklı dozlarının etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.



## **Materyal ve Yöntem**

### **Bitkisel Materyal**

1920'de Kaliforniya'da Ralf Boysen tarafından, *Rubus baileyanus* ve *Rubus loganobaccus*'un melezlenmesi ile elde edilen boysenberry klimakterik olmayan bir meyvedir (Porter, 1988; Lipe ve Ja, 1978). 2019-2020 yetiştiricilik sezonunda ticari bir fidancılık işletmesinden temin edilen boysenberry çelikleri, Akdeniz üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanında yer alan köklendirme serasında köklendirilmiş ve tüplere aktarılmıştır. Yetiştirilmiş olan bu fidanlar çalışmada bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

### **Yöntem**

Çalışmada kullanılan explantlar 20-30 Mart 2021 tarihlerinde, Araştırma ve Uygulama Alanında bulunan Boysenberry bitkilerinin sürgün uçlarının 2-3 cm boyunda kesilip yaprakçıklardan temizlenmesi ile temin edilmiştir. Çalışma tesadüf parselleri deneme planına göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Denemeler, her uygulama için 10 eksplant ile 3 tekrerrür şeklinde oluşturulmuştur.

### **Yüzey Sterilizasyonu**

Tüplü fidanlardan alınan bitki sürgün uçları laboratuvarında öncelikle çeşme suyu ile 3 kez yıkanmıştır. Ardından % 70'lik etanol çözeltisinde 30 saniye tutulup, 100 ml'sine 1-2 damla Tween-20 damlatılmış % 30'lük sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi içerisinde 20 dakika bekletildikten sonra 3 kez steril distile sudan geçirilmiştir (Najaf-Abadi ve Hamidoghli, 2009).

### **Eksplantların besin ortamlarında kültüre alınması**

Başlangıç besin ortamı olarak MS temel ortam bileşimi kullanılmıştır. MS ortamına %3 sakkaroz ve %0.7 agar ve %0.44 Gelrite ilave edilmiş ve pH 5.8'e ayarlanmıştır. Besin ortamları steril kabin içerisinde, 190 cc hacmindeki cam kavanozlara, yaklaşık 40 ml doldurularak, 121°C'de 1.5 p.s.i. basınçta 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi yapılan eksplantların dış yüzeyleri steril pens ve bistüri yardımı ile zarar vermeyecek şekilde temizlenmiş, steril kabin içerisinde aseptik koşullarda 0.5-0.7 cm olacak şekilde kesilerek her kavanozda iki eksplant olacak şekilde transfer edilmiştir. 2 hafta süreyle, 25 ± 1°C' de, 16 saat fotoperiyotta florasan lamba altında (30-35 µmol m<sup>-2</sup> S<sup>-1</sup>) iklim odasında kültüre alınmıştır.

### **Alt kültür uygulamaları**

Başlangıç aşamasında MS ortamında kültüre alınarak 2 hafta süreyle gelişmesi sağlanmış bitkiciklere oksin olarak IBA (0, 0.5, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>) ve sitokinin olarak BAP'nın (0, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>) farklı konsantrasyonlarının kombinasyonları uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan BBD'ler başlangıç (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + %0.44 Gelrite), sürgün (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + 1, 2 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) ve köklendirme (MS + %3 Sakkaroz + %0.7 Agar + 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA) olacak şekilde uygulanmıştır. Alt kültürde bitkiciklerin, başlangıç aşamasında olduğu gibi 25±1 °C sıcaklıkta, 16 saat ışık/8 saat karanlık periyotta, 3000-3500 lüks'lük floresan lambalar (beyaz gün ışığı) altında iklimlendirme koşullarında 35-40 gün süreyle gelişmeleri sağlanmıştır.

### **Ölçümler**

Deneme süresi sonunda uygulamaların etkinliğini belirlemek amacıyla bitkiciklerde sürgün uzunluğu, gövde çapı, yaprak sayısı, yaprak eni ve boyu, yaş ve kuru sürgün ağırlığı, klorofil indeksi ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen bitkilerde yaş ve kuru ağırlıklar (g) hassas terazi yardımıyla ölçülürken, uzunluk ve çap (mm) ölçümleri dijital kumpas ile gerçekleştirilmiştir. Klorofil indeksleri ise SPAD okuması ile yapılmıştır.

### **İstatistiksel Analiz**

Deneme sonucunda elde edilen veriler IBM SPSS istatistiksel analiz paket programı (Standart versiyon 23.0) kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemlilik derecesini ortaya koymak için Duncan çoklu karşılaştırma testi (P≤0.05) yapılmıştır.

### **Bulgular ve Tartışma**

BBD'lerden olan BAP (1, 2 mg l<sup>-1</sup>) ve IBA (0.5, 1, 2 mg l<sup>-1</sup>)'nın farklı konsantrasyonlarının ve kombinasyonlarının boysenberrynin sürgün ucunun *in vitro* kültür yoluyla mikro çoğaltılmasına olan etkisinin araştırıldığı çalışmanın sonuçları aşağıda ayrı başlıklar altında sunulmuştur.



Çalışmada ele alınan, iki farklı BBD'nin farklı dozlardaki kombinasyonlarının boysenberrinin sürgün ucunun *in vitro* kültürde çoğaltılması ile elde edilen bitkilerin sürgün yaş ağırlığı (g), sürgün kuru ağırlığı (g), sürgün çapı (mm) ve çoğalma katsayısı üzerine olan etkisinin yapılan istatistiksel değerlendirmede önemli olduğu görülmüştür (Çizelge 1) ( $P < 0.05$ ). Karşılaştırmalı veri analizi neticesinde BAP 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında en yüksek ortama sürgün yaş ağırlığı (1.59 g) ve kuru ağırlığı (0.455 g) değerine ulaşıldığı görülmektedir. *In vitro* koşullarda bitki gelişiminin birçok faktörden etkilendiği, doğru BBD seçimi ve konsantrasyonunun ise bu faktörlerin başında geldiği belirtilmektedir (Raeva-Bogoslovskaya ve ark., 2021). Bu çalışmada da benzer şekilde araştırmada ele alınan her iki BBD ve dozlarının oldukça önemli olduğu saptanmıştır. Gichaba (2019), BAP ve NAA'nın farklı dozlarının ve kombinasyonlarının yabancı böğürtlenin mikro çoğaltımındaki başarısını kıyasladığı çalışmasında en yüksek yaş sürgün ağırlıklarının 0.5 mg/l NAA ile 2.5 mg/l BAP uygulamalarından elde edildiğini bildirmiştir (*Rubus Fruiticusus*; 1.8 mg, *Rubus apatelus*; 1.7 mg ve *Rubus volkenisis*; 1.8 mg). Yaptığımız çalışmada ise, böğürtlenin mikroçoğaltımında kullanılacak bu protokol ile BAP 2 mg l<sup>-1</sup> içeren MS besin ortamında 1.59 g yaş sürgün ağırlığına ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, hazırlanan içeriğin boysenberrinin mikroçoğaltımı için uygulanabilir bir protokol olduğunun göstergesidir. Çalışmada sürgün uzunluğu bakımından uygulamalar arasında önemli düzeyde fark tayin edilememiş olmakla beraber sürgün uzunluklarının 43,37-62,12 mm aralığında değiştiği görülmektedir (Çizelge 1). Benzer şekilde Najaf-Abadi ve Hamidoghli (2009) de dikensiz böğürtlenin (*Rubus spp.*) *in vitro* kültür yoluyla çoğaltılmasında kullanılacak protokol çalışmasında, BA ve GA<sub>3</sub>'in farklı doz kombinasyonlarının etkinliğini araştırmış, en yüksek ortalama sürgün uzunluğunun 5.87 cm ile 2 mg l<sup>-1</sup> BA ve 0.5 mg.l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacıların bildirmiş olduğu bu değerler, bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. Gövde çapı bakımından ise en yüksek ortalama değere IBA 0,5 mg l<sup>-1</sup> + BAP 1 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında (1.44 mm) ulaşılmıştır (Çizelge 1). Uygulamaların bitkiciklerin çoğalma katsayısına olan etkisi incelendiğinde; sürgün ağırlıklarında olduğu gibi bu parametrede de BAP 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında (10.40) en yüksek ortama değer elde edildiği görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda BAP ve IBA'nın farklı dozlarının ve kombinasyonlarının benzer şekilde *in vitro* koşullarda bazı böğürtlen çeşitlerinde sürgün gelişimini teşvik ettiği bildirilmektedir (Meng ve ark., 2004; Yıldız ve Barut 2006; Kefayeti ve ark., 2019; Umarusman ve ark., 2020). Bu veriler ışığında, Çizelge 1'de yer alan BAP ve IBA'nın farklı dozlardaki kombinasyonlarının, boysenberrinin *in vitro* kültüründe sürgün gelişimine olan etkisi değerlendirildiğinde, BAP 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasının sürgün gelişimini önemli düzeyde arttırdığı görülmektedir.

Çizelge 1. Farklı IBA ve BAP dozlarının boysenberrinin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltımındaki sürgün gelişimine olan etkisi

Table 1. The effect of different doses of IBA and BAP on shoot growth in *in vitro* culture propagation of boysenberry

Uygulamalar	Sürgün Yaş Ağırlığı (g)	Sürgün Kuru Ağırlığı (g)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Gövde Çapı (mm)	Çoğalma Katsayısı
Kontrol	0.83 abc	0.253 b	53.0	10.33 ab	1.80 d
BAP 1	0.34 c	0.054 b	55.78	0.85 c	6.20 b
BAP 2	<b>1.59 a</b>	<b>0.455 a</b>	59.56	1.13 abc	<b>10.40 a</b>
IBA 0,5 + BAP 1	1.33 ab	0.231 b	43.37	<b>1.44 a</b>	6.40 b
IBA 0,5+BAP 2	0.64 bc	0.082 b	54.50	1.11 abc	9.80 a
IBA 1+ BAP 1	0.97 abc	0.171 b	55.58	1.20 abc	5.20 b
IBA 1+BAP 2	0.70 abc	0.235 b	44.43	1.10 abc	3.40 cd
IBA 2+BAP 1	1.40 ab	0.208 b	47.89	0.93 bc	2.20 d
IBA 2+BAP 2	1.30 ab	0.232 b	62.12	1.11 abc	4.60 bc

\* Aynı sütunda yapılan farklı harflendirmeler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $P \leq 0.05$ )

Farklı IBA ve BAP dozlarının boysenberrinin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltımındaki etkinliğini belirlemek için ölçümleri yapılan yaprak sayısı, yaprak eni, yaprak boyu ve klorofil indeksi ortalama değerleri ve istatistiksel farklılıkları ( $P < 0,05$ ) Çizelge 2'de yer almaktadır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde uygulamaların yaprak sayısı üzerine etkili olduğu en yüksek ortalama



değere BAP 2 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında (48.2 adet) ulaşıldığı görülmektedir. Farklı uygulamalardan elde edilen ortalama yaprak eni ve yaprak boyu değerleri bakımından uygulamalar arasında istatistiksel bir fark saptanamamıştır. Klorofil indeksi açısından en iyi sonuç 123.72 ile BAP 1 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 2). Gichaba (2019) yabani böğürtlenler için mikro çoğaltım protokollerini optimize ettiği çalışma sonucunda 0,5 mg/l NAA ile 2,5 mg/l BAP ile uygulaması sonucunda, sırasıyla *Rubus Fruiticus*, *Rubus apatelus* ve *Rubus volkenisis* için en yüksek ortalama yaprak sayılarını 12.6, 12.3 ve 11.6 olarak bildirmiştir. Bu değerler bizim elde ettiğimiz değerlerin altında bir ortalamaya sahiptir. Bu farklılık çeşit değişikliğinden kaynaklanmış olabileceği gibi çalışmanın başarılı sonuçları ile de açıklanabilmektedir.

Çizelge 2. Farklı IBA ve BAP dozlarının boysenberrynin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltımındaki yaprak sayısı, yaprak eni, yaprak boyu ve klorofil indeksine olan etkisi

Table 2. The effect of different doses of IBA and BAP on the number of leaves, leaf width, leaf length and chlorophyll index of *in vitro* culture propagation of boysenberry

Uygulamalar	Yaprak Sayısı (adet)	Yaprak Eni (mm)	Yaprak Boyu (mm)	Klorofil İndeksi
Kontrol	21.4 cd	10.604	13.634	98.00 b
BAP 1	23.4 bcd	10.216	11.426	<b>123.72 a</b>
BAP 2	<b>48.2 a</b>	10.398	10.894	103.26 b
IBA 0,5+BAP 1	34.0 abc	5.782	7.028	106.48 b
IBA 0,5+BAP 2	22.0 bcd	8.710	8.912	95.72 b
IBA 1+ BAP 1	30.0 bcd	8.176	9.244	98.04 b
IBA 1+BAP 2	14.4 d	11.622	13.268	97.72 b
IBA 2+BAP 1	39.0 ab	11.716	14.092	102.40 b
IBA 2+BAP 2	20.6 cd	9.008	11.514	101.98 b

\* Aynı sütunda yapılan farklı harflendirmeler istatistiki olarak önemli farklılıkları göstermektedir (P≤0.05)

Boysenberrynin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltılmasında IBA uygulamalarının farklı konsantrasyonlarının bitkilerin kök gelişimi üzerine olan etkileri Çizelge 3’de görülmektedir.

Farklı uygulama dozları içerisinde istatistiksel anlamda (P≤0.05) en yüksek ortalama kök yaş ağırlığı (0.279 g), kuru ağırlığı (0,0368 g) değerlerine IBA 1 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında, en yüksek ortalama kök sayısı (14.04 adet) değerlerine ise IBA 0,5 mg l<sup>-1</sup> uygulamasında ulaşılmıştır (Çizelge 3). Kök uzunluğu bakımından önemli düzeyde bir fark belirlenemezken, ortalama değerler 29.81-46.95 mm aralığında değişim göstermiştir. Köklenme oranı bakımından ise en yüksek ortalama değer (%100) IBA 1 mg l<sup>-1</sup> ve IBA 0,5 mg l<sup>-1</sup> uygulamalarında tayin edilmiştir. Bobrowski ve ark. (1996), mikro çoğaltımla elde edilen Ebano, Guarany, Sel. 3 ve Sel. 9 böğürtlen çeşitlerine köklenme aşamasında IBA’nın 0.3, 0.5 ve 0.8 mg/l dozlarını uygulamışlardır. Araştırmacılar çeşitlere ve uygulama dozlarına göre değişiklik göstermekle birlikte, çalışmalarında 9.93 ile 13.3 mm aralığında değişen ortalama kök uzunluklarını bildirmektedirler. Bu sonuçlar bizim yaptığımız çalışmanın sonuçlarından daha düşük ortalamalar sergilemekte ve çalışmada ele alınan uygulama dozlarının kök gelişimi üzerine etkili olduğu görülmektedir. Ahmed ve ark. (2018) ise, IBA’nın farklı dozlarının minik böğürtlen çeliklerinin köklenmesi ve büyümesi üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışma sonucunda benzer şekilde IBA’nın böğürtlen çeliklerinin kök uzunluğunu ve kök sayısını kontrole kıyasla önemli oranda arttırdığını bildirmektedirler. Kefayeti ve ark. (2019)’da benzer şekilde *in vitro* koşullarda Chester thornless böğürtlen çeşidinin mikro çoğaltımında IBA’nın farklı dozlarının bitkilerin kök sayısı üzerine kontrole kıyasla önemli düzeyde etki yarattığını bildirmektedirler. Najaf-Abadi ve Hamidoghli (2009), dikensiz böğürtlenin *in vitro* kültürde çoğaltılması aşamasında 2 mg l<sup>-1</sup> IBA konsantrasyonu uygulamasından diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek ortalama kök sayısı (4 adet) ve kök uzunluğu (7.83 cm) elde edildiğini bildirmektedirler. Bu veriler bizim çalışmamızdan elde edilen ortalama en yüksek kök uzunluğu (71.27 mm) ve kök sayısı (14 adet) değerleri ile kıyaslandığında, yürütülen bu çalışmadan başarılı ve uygulanabilir sonuçlar elde edildiği görülmektedir.



Çizelge 3. Farklı IBA ve BAP dozlarının boysenberrinin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltımındaki köklenmesine olan etkisi

Table 3. The effect of different doses of IBA and BAP on the rooting of boysenberry in *in vitro* culture propagation

Uygulamalar	Kök Ağırlığı (g)	Yaş	Kök Ağırlığı (g)	Kuru	Kök Uzunluğu (mm)	Kök Sayısı (adet)	Sayı	Köklenme Oranı (%)
Kontrol	0.045 b		0.0154 b		43.54	5.02 bc		95 ab
IBA 0,5	<b>0.209 a</b>		0.0130 b		44.43	<b>14.04 a</b>		<b>100 a</b>
IBA 1	<b>0.279 a</b>		<b>0.0368 a</b>		46.95	7.60 b		<b>100 a</b>
IBA 2	0.051 b		0.0080 b		29.81	4.04 c		90 b

\* Aynı sütunda yapılan farklı harflendirmeler istatistiki olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $P \leq 0.05$ )

### Sonuç ve Öneriler

Çalışmadan elde edilen sonuçlar bu konuda yapılacak olan çalışmalara basamak teşkil etmekle birlikte boysenberrinin mikro teknik yöntem ile çoğaltımının uygun olduğunu göstermektedir. Üzümü meyve yetiştiriciliği konusunda önemli bir potansiyeli olan ülkemizin fidan ihtiyacının karşılanmasında mikro çoğaltım yöntemlerinden yüksek oranda faydalanabilecektir. Ülkemizde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda boysenberry yetiştiriciliği konusunda bilgi eksikliğinin giderilmesine katkı sağlayacak olan çalışmaların yapılması bu alana katkı sağlayacaktır. Bu açıdan bu bitki türünde bu amaçla yapılacak çalışmalar için, uygun IBA ve BAP dozlarının birlikte görüleceği bir kaynak ortaya çıkmıştır.

Yapılan çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde; IBA ve BAP'ın farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarının, sürgün gelişimi açısından değerlendirilebilecek sürgün yaş ve kuru ağırlığı, çoğalma katsayısı ve yaprak sayısı kriterlerine olan en iyi etkisi  $2 \text{ mg l}^{-1}$  BAP uygulamasında belirlenmiştir. Kök gelişimi açısından ise IBA'nın farklı dozları arasında  $0.5$  ve  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA doz uygulamaları en yüksek ortalama kök yaş ve kuru ağırlığı, kök sayısı ve köklenme oranının tespit edildiği uygulamalar olmuştur. Sonuç olarak, elde edilen bulgulara göre; boysenberrinin sürgün ucunun *in vitro* kültür yoluyla mikro çoğaltılmasında sürgün gelişimi aşaması için  $2 \text{ mg l}^{-1}$  BAP, köklendirme aşaması için ise  $0.5$  ve  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA doz uygulaması tavsiye edilmektedir.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

SŞr makaleye %70 oranında (araştırmanın planlanması, yürütülmesi, makale metninin yazımı, istatistiksel analizlerin yapılması ve yorumlanması), ZK %30 oranında (araştırmanın yürütülmesi) katkı yapmışlardır.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### Kaynaklar

- Ahmed, S., Roberto S.R., Shahab, M., Koyama, R., Colombo R.C., Hussain, I., Sarfaraz, O., 2018. Improvement of blackberry rooting using mini cuttings and different methods of IBA application. *International Journal of Biosciences*. 13(2): 1-9.
- Al-Amin, M. D., Karim, M. R., Amin, M. R., Rahman, S., Mamun, A. N. M., 2009. *In vitro* micropropagation of banana. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*. 34(4): 645-659.
- Badjakov, I., Georgiev, V., Georgieva, M., Dincheva, I., Vrancheva, R., Ivanov, I., Pavlov, A., 2021. Bioreactor technology for *in vitro* berry plant cultivation. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites: Fundamentals and Applications*. 1: 383-431.
- Bobrowski, V. L., Mello-Farias, P., Petters, J., 1996. Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars. *Current Agricultural Science and Technology*. 2(1): 17-20.
- Clark, J. R., & Finn, C. E. (2014). Blackberry cultivation in the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 36: 46-57.
- Cooney, J. M., Jensen, D. J., & McGhie, T. K. (2004). LC-MS identification of anthocyanins in boysenberry extract and anthocyanin metabolites in human urine following dosing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(3): 237-245.
- Çetiner, M.S., N.Y. Yalçın, İ.T. Ağar. 1993. "Nessy" ve "Theodor Reimers" Böğürtlen Çeşitlerinin *in vitro* Klonal Çoğaltılması. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, Yayın No: 9, 55-64.



- Debnath, S. C., 2009. Characteristics of strawberry plants propagated by in vitro bioreactor culture and ex vitro propagation method. *Engineering in Life Sciences*. 9(3): 239-246.
- Debnath, S. C., Goyali, J. C., 2020. In vitro propagation and variation of Antioxidant properties in micropropagated Vaccinium berry plants—A review. *Molecules*. 25(4): 788-814.
- Diaconeasa, Z.; Florica, R.; Rugină, D.; Cuibus, L.; Socaciu, C. (2014). HPLC/PDA–ESI/MS Identification of Phenolic acids, flavonol glycosides and antioxidant potential in blueberry, blackberry, raspberries and cranberries. *J. Food Nutr. Res.* 2: 781–785
- FAOSTAT, 2021. Crop statistics. Retrieved May 10, 2019, from <<http://www.fao.org/faostat/es/#data>>.
- Finn, C. E., Strik, B. C., Yorgey, B. M., Peterson, M. E., Lee, J., Martin, R. R., & Hall, H. K. (2014). ‘Columbia Star’ thornless trailing blackberry. *HortScience*. 49(8): 1108-1112.
- Furuuchi, R., Shimizu, I., Yoshida, Y., Hayashi, Y., Ikegami, R., Suda, M., Minamino, T., 2018. Boysenberry polyphenol inhibits endothelial dysfunction and improves vascular health. *PLoS One*. 13(8):1-16
- Furuuchi, R., Shimizu, I., Yoshida, Y., Hayashi, Y., Ikegami, R., Suda, M., ... & Minamino, T. (2018). Boysenberry polyphenol inhibits endothelial dysfunction and improves vascular health. *PLoS One*. 13(8): e0202051.
- Gichaba, S. N., 2019. *Optimizing micropropagation protocols for wild blackberry (rubus sp)*. Doctoral dissertation, Egerton University, Horticulture Science, 73p.
- Gray, D. J., Benton, C. M. 1991. In vitro micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). *Plant cell, tissue and organ culture*. 27(1): 7-14.
- Hall, H. K., Langford, G. (2005, December). The 'Boysenberry': development of the cultivar and industries in California, Oregon and New Zealand. In IX International Rubus and Ribes Symposium 777 (pp. 103-108).
- Kefayeti, S., Kafkas, E., Ercisli, S., 2019. Micropropagation of ‘Chester thornless’ blackberry cultivar using axillary bud explants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 47(1): 162-168.
- Lin, S. Y., Agehara, S., 2020. Exogenous gibberellic acid advances reproductive phenology and increases early-season yield in subtropical blackberry production. *Agronomy*. 10(9): 1317.
- Lipe, J. A., JA, L., 1978. Ethylene in fruits of blackberry and rabbiteye blueberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 103: 76–7.
- Meng, R., Chen, T. H., Finn, C. E., Li, Y., 2004. Improving In Vitro Plant Regeneration from Leaf and Petiole Explants of Marion Blackberry. *HortScience*. 39(2): 316-320.
- Mezzetti, B., Savini, G., Carnevali, F., Mott, D., 1997. Plant genotype and growth regulators interaction affecting in vitro morphogenesis of blackberry and raspberry. *Biologia Plantarum*. 39(1): 139-150.
- Molkanova, O. I., Egorova, D. A., Meleschuk, E.A., 2018. The use of biotechnological methods in conservation and accelerated proliferation of berry crops (Breeding and variety cultivation of fruit and berry crops. 5(1): 73–76.
- Najaf-Abadi, A. J., Hamidoghli, Y., 2009. Micropropagation of thornless trailing blackberry ('*Rubus sp.*') by axillary bud explants. *Australian Journal of Crop Science*. 3(4): 191.
- Porter, N. G., 1988. Factors influencing the aroma volatiles, sugars, and acids of boysenberry fruit. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*. 16(4): 349-357.
- Raeva-Bogoslovskaya, E. N., Molkanova, O. I., Krakhmaleva, I. L., & Soboleva, E. V. (2021, November). Biotechnology methods to produce planting material of the genus *Rubus L.* In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 941, No. 1, p. 012027)*. IOP Publishing.
- Raeva-Bogoslovskaya, E. N., Molkanova, O. I., Krakhmaleva, I. L., Soboleva, E. V. (2021, November). Biotechnology methods to produce planting material of the genus *Rubus L.* In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 941, No. 1, p. 012027)*. IOP Publishing.
- Sellappan, S., Akoh, C. C., Krewer, G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(8): 2432-2438.
- Strik, B. C., Clark, J. R., Finn, C. E., Bañados, M. P., 2007. Worldwide blackberry production. *HortTechnology*. 17(2): 205-213.
- Şener, S., Duran, C.N., 2020. Farklı mikrobiyal gübrelerin boysenberry çeliklerinin köklenmesi üzerine olan etkileri. *Mediterranean Agricultural Sciences*. 33(3): 309-313.
- TÜİK, 2021. Türkiye İstatistik Kurumu, <https://data.tuik.gov.tr/Search/Search?text=Parf%C3%BCmeri>, (Date of access:15.08.2021).
- Umarusman, M. A., Şimşek, Ö., Biçen, B., Serçe, S., Kaçar, Y. A., 2020. Farklı Böğürtlen (*Rubus fruticosus L.*) Çeşitlerinin Klasik ve Yeni Nesil Doku Kültürü Teknikleri ile Mikroçoğaltım Olanaklarının Araştırılması.
- Wood, G. A., Andersen, M. T., Forster, R. L. S., Braithwaite, M., Hall, H. K., 1999. History of Boysenberry and Youngberry in New Zealand in relation to their problems with Boysenberry decline, the association of a



- fungal pathogen, and possibly a phytoplasma, with this disease. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 27: 281-295.
- Yıldız, D., Barut, E. (2006). Böğürtlende Mikro Çoğaltım Çalışmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 25-31.
- Zimmerman, R. H., 1991. Micropropagation of temperate zone fruit and nut crops. In *Micropropagation* (pp. 231-246). Springer, Dordrecht.